

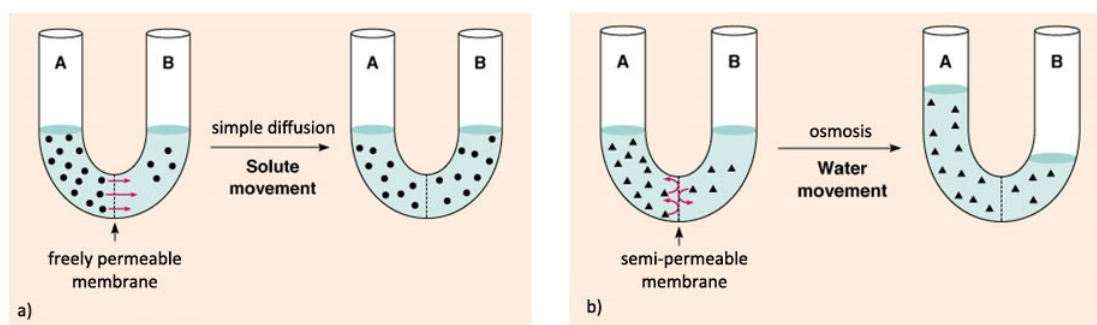
Transport vody cez biomembrány

Teoretická časť

Každá bunka je obklopená bunkovou membránou, ktorá udržiava komponenty bunky izolované od vonkajšieho prostredia. Služi tiež ako komunikačné rozhranie medzi bunkou a jej prostredím, podieľa sa na regulácii toku látok z a do bunky. Transport látok môže byť realizovaný aktívne (prostredníctvom molekúl alebo častíc) a pasívne (difúzia, osmóza). Difúzia je samovoľné prenikanie častíc jednej látky medzi častice druhej látky v smere koncentračného spádu, napr. transport iónov Na^+ , K^+ , Ca^{2+} cez bielkovinový kanál uložený v membráne. Osmóza je selektívny transport molekúl rozpúšťadla cez pórovitú (semipermeabilnú) membránu do roztoku s vyššou koncentráciou. Počas tohto procesu dochádza k zvýšeniu tlaku na tej strane membrány, do ktorej preniká rozpúšťadlo. Vzniknutý tlak sa nazýva osmotický tlak a je definovaný

$$\pi = cRT \quad (2.1)$$

kde c je koncentrácia roztoku, $R = 8,314 \text{ J/K} \cdot \text{mol}$ je univerzálna plynová konštanta a T je termodynamická teplota.



Obr. 2.1: Transport molekúl pri a) difúzii a b) osmóze.

Objem kvapaliny, ktorý prejde cez membránu za časovú jednotku cez jednotku plochy sa nazýva objemový tok materiálu J_V a je definovaný

$$J_V = J_1V_1 + J_sV_s \quad (2.2)$$

kde V_1 je parciálny molárny objem rozpúšťadla, V_s je parciálny molárny objem rozpustenej látky, J_1 je tok rozpúšťadla a J_s je tok rozpustenej látky. Rozdiel rýchlostí pohybu látky v_s a rozpúšťadla v_1 sa nazýva *výmenný* alebo *difúzny tok* J_D :

$$J_D = v_s - v_1 = \frac{J_s}{c_s} \quad (2.3)$$

pričom c_s je aritmetický priemer koncentrácií oboch fáz. *Hydraulický koeficient vodivosti* L_v , nazývaný aj mechanický filtračný koeficient, patrí k dôležitým charakteristikám membrán. Možno ho vypočítať nasledujúcim spôsobom:

$$L_v = \frac{J_V}{\Delta p - \Delta \pi} \quad (2.4)$$

Ak sa meranie uskutočňuje pri izobarických podmienkach ($\Delta p = 0$) a na získanie rozdielu osmotických tlakov použijeme semipermeabilnú látku, rovnica sa zjednoduší:

$$L_v = \frac{J_V}{\Delta \pi} \quad (2.5)$$

Na základe rovnice (2.5) možno hydraulický koeficient vodivosti definovať ako pomer medzi objemovým tokom J_V a rozdielom osmotických tlakov $\Delta \pi$.

V tomto laboratórnom cvičení sa na určenie termodynamických transportných parametrov membrány používa špeciálne navrhnutá meracia aparátúra s kapilármi. Pre objemový tok kvapaliny J_V v kapiláre a vzdialenosť Δl , ktorú v nej kvapalina prejde, platí

$$J_V = \frac{\Delta l S_k}{\Delta t S_m} \quad (2.6)$$

kde S_k je plocha vnútorného prierezu kapiláry a S_m je plocha membrány. Ak je rozpúšťadlom voda a sú zachované izobarické podmienky, platí vzťah

$$J_V = \pi_2 L_v \quad (2.7)$$

kde π_2 je osmotický tlak roztoku určený vzťahom (2.1).

Základnou podmienkou prežitia buniek je udržanie rovnováhy v organizme, tento stav možno udržať pomocou regulácie iónovej rovnováhy a príjmu a výdaju vody. V ľudskom tele pomocou osmózy dochádza k odstráneniu škodlivých látok z krvi v obličkách, k vstrebávaniu vody žalúdkom a tenkým črevom. Zmenou vonkajších podmienok v okolí bunky môže dôjsť k narušeniu jej rovnováhy. Ak je bunka vystavená hypertonickým podmienkam (napr. morská voda), bunka zvyčajne odovzdáva vodu a dochádza k jej scvrknutiu. Naopak, pri hypotonických podmienkach (napr. riečna voda), bunka spravidla prijíma vodu z okolia a môže dôjsť k jej prasknutiu. V rastlinách je osmóza čiastočne zodpovedná za vstrebávanie pôdnej vody koreňovou sústavou.

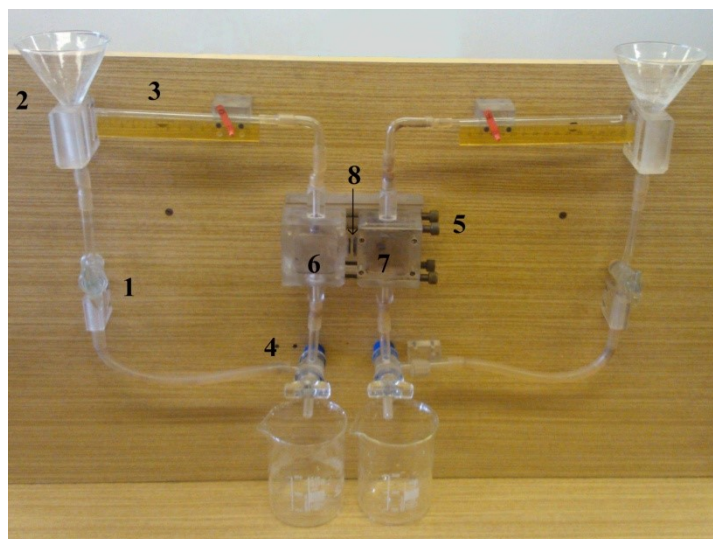
Experimentálna časť

Úlohy

Experimentálne určenie transportných parametrov membrán.

Prístroje a pomôcky

Meracia aparátúra, membrána – plátok zemiaka, jablka, cibule ($\phi = 10$ mm).



Obr. 2.2: Meracia aparátúra: 1 – sklenený kohútik, 2 – zásobný lievik, 3 – meracia kapilára, 4 – sklenený kohútik, 5 – upevňovacie skrutky, 6 a 7 – meracie komôrky, 8 – membránová vzorka.

Chemikálie

Destilovaná voda, roztok sacharózy v koncentračnej oblasti 0,1 – 0,5 mol/l

Opis zariadenia a metóda merania

Meracia aparátúra je na obr. 2.2. Membrána je umiestnená medzi meracími komôrkami, ktoré sú spojené spojovacími dielmi s horizontálnymi meracími kapilárkami a trojcestnými kohútikmi s rezervoármi príslušných roztokov.

Meranie využíva rozdiel osmotických tlakov medzi meracími komôrkami. Aparátúra zviditeľňuje objemový tok J_V , ktorý možno pozorovať prostredníctvom posunu menisku v meracích kapilárkach. Posun menisku (okraj kvapaliny) sa určuje odčítaním hodnoty na pripojenom milimetrovom pravítku. Časti zariadenia sú na oboch stranách symetrické a upevnené v rovnakej výške, aby bola splnená podmienka izobarického deja. V tomto laboratórnom cvičení sú ako membrány použité plátky zemiaka, jablka alebo cibule. Tieto biologické objekty nepredstavujú membrány v pravom zmysle slova, ale ide o plošné tkanivové vzorky, ktoré majú sériovo zapojené membránové systémy.

Postup merania a vyhodnotenie

1. Membránu umiestnite na príslušné miesto meracej aparátúry (obr. 2.2) a obe meracie komôrky naplňte rovnakými množstvami roztokov I (voda) a II (roztok sacharózy).
2. Komôrky naplňte príslušnými roztokmi tak, aby roztoky v kapilárkach dosiahli asi $1/3$ až $1/2$ dĺžky meracích kapilár. Dbajte o to, aby sa tvorilo čo najmenej bubliniek

a kontrolujte približnú rovnosť objemových zmien v oboch kapilárach.

3. Zvoľte si časový interval (napr. každú 1 min.), v ktorom zmeriate posun menisku v kapiláre.
4. Meranie opakujte 3-krát.
5. Okamžite po skončení merania celú meraciu aparatúru premyte destilovanou vodou.
6. Získanú časovú závislosť znázornite graficky a výsledok zhodnoďte. Údaje potrebné na určenie J_V (rovnicu 2.6): plocha vnútorného prierezu kapiláry $S_k = 1 \text{ mm}^2$, priemer kruhovej membrány $\phi_m = 10 \text{ mm}$, Δl je smernica závislosti $l = f(t)$.
7. Hydraulický koeficient vodivosti L_V kvantifikujte pomocou hodnoty objemového toku J_V a osmotického tlaku π (rovnicu 2.7).

Literatúra

- [1] Círák, J., Ottova, A.: Bioelektronika – Návody na cvičenia. Skriptá. 1984. SVŠT v Bratislave.
- [2] Sackmann, E.: Biological membranes architecture and function. Structure and Dynamics of Membranes 1. 1995.